Aus dem Institut für Klinische Physiologie im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. K. Hierholzer

Eine photographische Bestimmung von Punktionsorten in Oberflächentubuli an der Rattenniere

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Angela Bauer
aus Berlin

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0092

Aus dem Institut für Klinische Physiologie im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. K. Hierholzer

Eine photographische Bestimmung von Punktionsorten in Oberflächentubuli an der Rattenniere

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Angela Bauer

aus Berlin

Referent:	Prof.Dr.med.K.Hierholzer
Korreferent:	Prof.Dr.med.H.-J. Merker
Promotionsdatum:	16.11.1976

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.0	Nomenklatur	1
2.0	Einleitung	2
3.0	Methode	5
	3.1 Mikropunktionsexperimente	5
	3.2 Lissamingrünpassage	6
	3.3 Polaroidphotographie	7
	3.4 Herstellung der Glaskapillaren	7
	3.5 Microfil- Injektion	8
	3.6 Koagulationsnekrose und Microdissektion	9
4.0	Ergebnisse	11
	4.1 Bemerkungen zur Ausmessung	11
	4.2 Ergebnisse im proximalen Tubulus	14
	4.3 Ergebnisse im distalen Tubulus	15
5.0	Diskussion	16
	5.1 Zur Nomenklatur	16
	5.2 Zu den Ergebnissen	18
6.0	Zusammenfassung	26
7.0	Literaturverzeichnis	31
8.0	Lebenslauf	33

1.0 Nomenklatur

L_{FP}	=	Strecke Glomerulus - frühproximale Punktionsstelle
L_{SP}	=	Strecke Glomerulus - spätproximale Punktionsstelle
L_{PT}	=	Gesamtlänge des proximalen Tubulus
L_{H}	=	Gesamtlänge des dünnen Teils der Henle´schen Schleife
H	=	Endpunkt des dünnen Teils der Henle´schen Schleife
L_{FD}	=	Strecke H - frühdistale Punktionsstelle
L_{SP}	=	Strecke H - spätdistale Punktionsstelle
L_{DT}	=	Gesamtlänge des distalen Tubulus
S	=	Endpunkt des distalen Tubulus
t_{FP}	=	frühproximale Passagezeit des Lissamingrüns
t_{SP}	=	spätproximale Passagezeit des Lissamingrüns
t_{FD}	=	frühdistale Passagezeit des Lissamingrüns
t_{SD}	=	spätdistale Passagezeit des Lissamingrüns

2.0 Einleitung

Die genaue Kenntnis des Punktionsortes ist von grundlegender Bedeutung für die Durchführung von Mikropunktionsexperimenten an der Rattenniere. Bisher erfolgte die Lokalisation des Punktionsortes durch Mikrodissektion. P. Bott (2) füllte z.B. die Nephren zur Markierung von der Punktionsstelle aus mit Neopren, während von Oliver (11) ungefüllte, in Formalin fixierte Nephren ausgemessen wurden. Obwohl mit Hilfe dieser Mikrodissektionsmethode wesentliche Kenntnisse über Morphologie und Physiologie der Niere gewonnen werden konnten, kann die Lokalisation des Punktionsortes immer nur im Anschluß an den Versuch und unter großem Zeitaufwand erfolgen.

Eine im Prinzip davon verschiedene Möglichkeit der Lokalisation ist die optische Verfolgung der zeitlich unterschiedlichen Anfärbbarkeit einzelner Tubulusschlingen während einer Farbstoffpassage. Diese Methode bringt insofern nur begrenzt Verbesserung, als jeweils nur ein sehr kleines Gebiet aufmerksam beobachtet werden kann und man daher zu mehreren, hintereinander erfolgenden Farbstoffinjektionen gezwungen ist. Diese müssen jedoch bei Experimenten, die das funktionelle Verhalten in der Niere betreffen, stark eingeschränkt werden, wenn man das für die Differenzierung proximaler und distaler Tubuli von Steinhausen (15) eingeführte Triphenylmethanderivat "Lissamingrün" (Chroma Gesellschaft, Stuttgart-Untertürkheim) benutzt. Von Dörge und Nagel (4) konnte gezeigt werden, daß dieser Farbstoff einen hemmenden Einfluß auf den Natrium-Transport an Epithelzellen hat. In einer Konzentration von 10 mg/100 ml in der Badflüssigkeit senkte der

Farbstoff an isolierten Froschhäuten den Kurzschlußstrom und die transepitheliale Potentialdifferenz. Auch an der Warmblüterniere sind Hemmungen der Natrium- und Wasserresorption und der Kalium-Sekretion nach wiederholter Injektion von Lissamingrün beobachtet worden, wie kürzlich Heller (8) mitteilte.

Deshalb ist es vorteilhaft, die Wanderung der Farbfront durch die einzelnen Tubulusschlingen bei einer einmaligen und daher die Funktion des Tubulusepithels nicht schädigenden Lissamingrünpassage photographisch festzuhalten. Anhand der Photographien ist es möglich, die Punktionsstellen vor dem eigentlichen Versuch auszuwählen und sich des beabsichtigten Punktionsortes sicher zu sein.

Diese wesentlich schonendere Methode ist von uns in der vorliegenden Arbeit entwickelt worden. Wir haben hierfür Aufnahmen der Nierenoberfläche zu definierten Zeiten einer Lissamingrünpassage angefertigt. Nachdem so die Anfärbezeit für eine bestimmte Schlinge bestimmt war, wurde das Nephron an diesem Ort punktiert und mit dem polimerisierenden Stoff "Microfil" (Fa. Canton Bio-Medical Products, Inc., Boulder, Colorado) über eine Glaskapillare gefüllt. Nach Auspolimerisation, Mazeration und Dissektion konnte der zu der gestoppten Zeit angefärbte Punktionsort nachgemessen werden. Auf diese Art erhielten wir Mittelwerte für Zeit und Ort. Das hier angegebene Verfahren ermöglicht es, nach einer einzigen Lissamingrün-Injektion gezielt proximale und distale Tubulusschlingen unter Umgehung der möglichen Nachteile wiederholter Farbstoffinjektionen zu identifizieren und zu punktieren. Das Verfahren ist außerdem wesentlich

zeitsparender als die sehr aufwendige Mikrodissektionstechnik, die zudem eine Identifizierung des Punktionsortes erst nach erfolgtem Mikropunktionsversuch gestattet.

3.0 Methode

Die in unseren Versuchen benutzten Ratten hatten vor den Mikropunktionsexperimenten freien Zugang zu einer Standarddiät (Altromin GmbH Lage, Lippe) und zu Trinkwasser.

3.1 Mikropunktionsexperimente

Die ca. 180 bis 230 g schweren männlichen Albinoratten (Stamm Hannover SPF, Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover-Linden) wurden mit 100 mg/kg Inactin (R) (0,5 g Trockenampullen, Promonta, Hamburg, Reg.Nr. 1396) intraperitoneal narkotisiert und wie im Labor üblich (10) auf einen regelbar beheizten Operationstisch gelagert. Die linke Niere wurde durch einen Flankenschnitt freigelegt und in eine mit dem Operationstisch verbundene Metallschale gebettet, die mit einem formgerecht zugeschnittenen Tupfer ausgepolstert war. Über einen regelbar beheizten Block lief dickflüssiges Paraffinöl (Apotheke des Klinikums Steglitz, FU Berlin) in die Schale, so daß die Niere während des ganzen Versuchs warmgehalten und vor Austrocknung geschützt wurde. Die Rectaltemperatur wurde regelmäßig mit einem Sekundenthermometer (Thermovit Bereich 20 bis 42 Grad C, Fa. Atmos, Lenzkirch/Schwarzwald) gemessen. Zur Kontrolle des Urinflusses wurde in den linken Ureter kurz unterhalb des Nierenbeckens ein in seinem Durchmesser auf das Ureterlumen abgestimmter Polyäthylenkatheter (Fa. J.Schmid, Berlin) eingebunden. Die Tiere atmeten durch eine weitlumige Polyäthylentrachealkanüle.

\+ Bei der Auswahl der Versuchstiere ist zu beachten, daß Wahl und Schnermann (17) sowohl eine lineare Abhängigkeit von Körpergewicht und Nierengewicht als auch von Nierengewicht und Länge der einzelnen Nephronabschnitte festgestellt haben. Es ist daher wichtig, einen einmal gewählten Gewichtsbereich einzuhalten.

Die Blutdruckregistrierung erfolgte blutig im zentralen Stumpf der rechten Arteria carotis mit Hilfe eines Statham-Elementes (P 23 Db, Fa. Statham) und über einen Direktschreiber (Rikadenki-Multi-Pen-Recorder, Mod. Ka 61, Fa. Rikadenki, Tokio). Die Beleuchtung der Nierenoberfläche erfolgte durch eine Kaltlichtlampe (Nr. 10301, Sass und Wolf, Knittlingen). Zur Punktion wurden Mikromanipulatoren mit Kapillarhalterung (Fa. Leitz, Oberkochen) verwendet. Die Betrachtung der immobilisierten Niere erfolgte durch ein Großfeld-Stereomikroskop (RS, Fa. Leitz, Oberkochen).

3.2 Lissamingrünpassage

Nachdem die Niere wie oben angegeben vorbereitet worden war, kam es darauf an, die an der Nierenoberfläche sichtbaren Schlingen voneinander zu differenzieren. Dies geschah nach der von Steinhausen 1963 beschriebenen Methode (15). Dieser Autor benutzte als Testsubstanz zur Sichtbarmachung des Harnstroms in den Oberflächenschlingen das Triphenylmethanderivat Lissamingrün SF (Chroma-Gesellschaft Stuttgart-Untertürkheim) in einer Konzentration von 10 g %. Wir injizierten stoßartig 0,05 ml dieser 10 %igen in einer Tuberkulinspritze mit entsprechend verstellbarer Arretierung aufgezogenen Lissamingrünlösung über einen in die rechte Vena jugularis eingebundenen Polyäthylenkatheder. In den folgenden Sekunden verfolgten wir die Anfärbung der einzelnen Oberflächenschlingen mit Hilfe des Stereomikroskops und registrierten die Zeit, die für

die Anfärbung der vier markantesten Stationen der Lissamingrünpassage benötigt wurde: frühproximale, spätproximale, frühdistale und spätdistale Schlingen. Das Bild, das die Nierenoberfläche zu diesen vier Zeitpunkten bot, wurde mit Polaroidphotographie festgehalten.

3.3 Polaroidphotographie

Die Mikrophotographie wurde mit Hilfe des Mehrzweckmikroskops (Fa. Leitz, Oberkochen) mit binokularem Phototubus und einer Polaroid-Land-Kamera (Modell ED-10) durchgeführt. Als Film wurde der Polaroidfilm Colorpak Typ 108 benutzt. Für die Farbaufnahmen wurde die Nierenoberfläche mit Hilfe eines kombinierten Kaltlicht-Blitz-Projektors (Entwicklung der Fa. Kleinicke, Berlin) im Auflichtverfahren beleuchtet. Das Blitzlicht von 1/1000 sec wurde über zwei Fiberglas-Lichtleiter bis unmittelbar an die Nierenoberfläche herangeleitet.

Nachdem so die Lissaminpassagezeit registriert worden war, wurden einzelne Tubulussegmente mit definierter Anfärbezeit zur Füllung mit dem durch Glaskapillaren injizierbaren Kunststoff Microfil ausgewählt.

3.4 Herstellung der Glaskapillaren

Ausgangsmaterial zur Herstellung der Mikropunktionskapillaren waren Glaskapillarröhrchen (Fa. Scientific Glass Apparaturs Co.Inc., Bloomfield, New Jersey). Der innere Durchmesser dieser Ausgangskapillaren beträgt 0,7 mm, der äußere 1,0 mm.

Nach dem Reinigen und Trocknen wurden die Kapillaren mit einem horizontalen Kapillar-Auszieh-Gerät (Fa. Hampel, Frankfurt) ausgezogen. Das Anschleifen erfolgte in einem Winkel von ca. 45 Grad auf einer mit Diamantpaste bestrichenen Schleifscheibe (Ø 10 cm, Bohrung 16 mm Ø, Fa. Hampel, Frankfurt). Die Korngröße der Diamantpaste beträgt 0,25 /u, (Fa. Winterfeld, Hamburg). Die Schulterlänge der fertigen Kapillaren beträgt ca. 250 /u, der äußere Spitzendurchmesser zwischen 12 und 16 /u.

3.5 Mikrofilinjektion

Die Glaskapillaren wurden nun mit Microfil, einem Silicon-Gummigemisch (Fa. Canton Bio-Medical Products, Inc., Boulder, Colorado) gefüllt. Um die Viskosität zu erreichen, die für unsere Versuchszwecke, nämlich zur Injektion in Mikrogefäße notwendig war, wurden 1,5 ml Mikrofil MV-112 mit 0,5 ml Microfil MV Diluent sorgfältig vermischt. Dieses Gemisch wurde kurz vor Gebrauch katalysiert durch Zugabe von drei Tropfen des in einer 5 /ul Pipette aufgezogenen Curing Agent.

Die mit Mikrofil gefüllte Kapillare wurde an ein manuell bedienbares Druckgerät (Werkstatt Klinikum Steglitz, FU Berlin) angeschlossen und in einen Mikromanipulator mit Kapillarhalterung (Fa. Leitz, Oberkochen) eingeschraubt. Die Injektion erfolgte bei Beobachtung unter dem Großfeld Stereomikroskop. Der Druck sollte bis zum Beginn der Auspolimerisation konstant gehalten werden. Die Glaskapillare war danach nicht weiter verwendbar.

Schließlich wurde von den gefüllten Tubuli eine photographische Aufnahme gemacht, auf der die Nephren numeriert und die Punktionsstellen markiert wurden. Nach Beendigung des Experimentes wurde die Niere am Hilus abgeklemmt (Hilusklemme, Werkstatt Klinikum Steglitz FU Berlin), herausgeschnitten, mit Filterpapier abgetupft, gewogen, halbiert und über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt.

3.6 Koagulationsnekrose und Mikrodissektion

Zur Koagulationsnekrose, die am anderen Tag durchgeführt wurde, verwendeten wir 50 %ige HCl, in der die Niere bei 50 Grad C für ca. 90 Minuten verblieb. Danach wurde sie mit aqua destillata gespült. Unter dem Stereomikroskop wurden die Punktionsstellen der einzelnen gefüllten Nephren im Vergleich zu den am Vortag gemachten Aufnahmen aufgesucht und wie folgt markiert:

Zunächst wurde die Nierenoberfläche mit einem Tupfer unter dem Mikroskop getrocknet. Das nekrotische Gewebe über der Punktionsstelle wurde mit zwei Dissektionsnadeln weggeschoben. Es war dabei wichtig, daß die Umgebung trocken war. Mit einer sehr feinen Spitze setzte man eine Markierung mit einem der Farbkonzentrate für Technovit-Kunststoffe auf den Mikrofilausguß. Für die angegebene Versuchsreihe wurde Farbkonzentrat "grün" für Technovit 8001 (Fa. Kulzer & Co., Bad Homburg) gewählt. Es löst sich gut von der Spitze der Kapillarkanüle und haftet schnell am Mikrofil. Nach ca. 5 Minuten war es getrocknet und die Niere konnte wieder in aqua destillata eingelegt werden. Einzelne kleine Gewebsblöcke mit je einem gefüllten Nephron wurden nun getrennt

voneinander auf verschiedene Objektträger gebracht und dort in einem Tropfen aqua destillata disseziert. Das einmal auf dem Mikrofil haftende Farbkonzentrat "grün" löst sich nicht auf, selbst wenn das Nephron sich wieder im Wasser befindet. Diese Methode zur Lokalisation des Punktionsortes ist genau und zuverlässig. Das dissezierte Nephron wurde im Anschluß unter dem Mikrometer mit hundertfacher Vergrößerung ausgemessen.

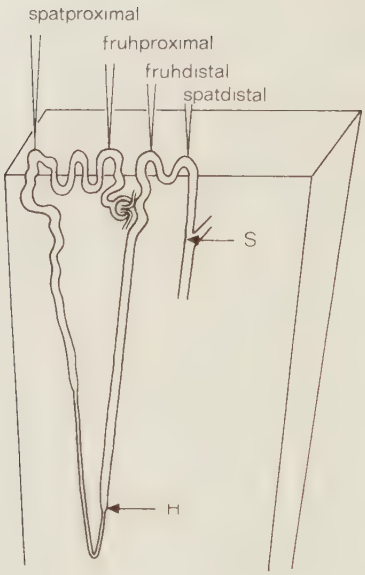
4.0 Ergebnisse

4.1 Bemerkungen zur Ausmessung

Bezugspunkt für die Punktionsorte im proximalen Tubulus war zumeist der Beginn des dünnen Teiles der Henle'schen Schleife, denn es gelang selten, eine retrograde Füllung bis zum Glomerulum zu erreichen. So wurde die von Wiederholt (18) gemessene Gesamtlänge des proximalen Tubulus, mit der auch unsere eigenen Messungen vollständig gefüllter Tubuli übereinstimmten, benutzt, um den Punktionsort in seinem Abstand vom Glomerulum zu bestimmen. Die mittlere Länge des proximalen Tubulus ergab gemäß zu L_{PT} = 7.72 mm, wobei die pars convoluta aus 25 Messungen den Wert 4.69 $\pm$ 0.08 mm, und die pars descendens aus 40 Messungen die Länge 3.03 $\pm$ 0.08 mm ergaben. Die Indizes der zu den Passagezeiten gehörenden Längen wurden auch für die Längenangaben verwendet. Bei der Ausmessung des distalen Tubulus wurden die Mikrofilausgüsse vom Punkt H aus gemessen, d.h. von der Übergangsstelle des dünnen Teils der Henle'schen Schleife zur pars ascendens des distalen Tubulus (vgl. Abb.1).

Einige Tubulusausgüsse mit distaler Punktionsstelle wurden auch von der Einmündung in das Sammelrohr aus gemessen (vgl. S in Abb. 1). Die mittlere Länge des distalen Tubulus beträgt nach eigenen Messungen L_{DT} = 6.782 $\pm$ 0.09 mm, ein Ergebnis, das aus zwölf Messungen (n = 12) bestimmt wurde.

Abbildung 2 zeigt den vollständigen Microfilausguß eines Nephrons, der von einer 224 g schweren Ratte gewonnen wurde. Die Zeichnung entstand mit Hilfe einer Zeicheneinrichtung für Orthoplan-Mikroskop (Fa.



Punktionsstellen in oberflächlich gelegenen
Tubulusabschnitten der Rattenniere

Abb. 1:

Punktionsstellen in oberflächlich gelegenen
Tubulusabschnitten der Rattenniere

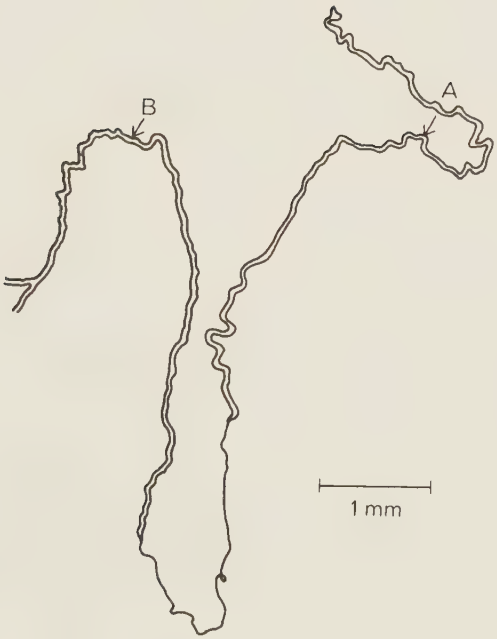


Abb. 2:

Microfil-gefülltes Nephron einer 224 g schweren Ratte Stamm Hannover SPf

A: während LG-Passage nach 12 sec angefärbte spätproximale Schlinge

B: während LG-Passage nach 18 sec angefärbte frühdistale Schlinge

Gesamtlänge 17650 /u

Länge des prox. Tubulus 8100 /u

Länge des dünnen Teils der Henle'schen Schleife 2000 /u

Länge des distalen Tubulus 7550 /u.

Leitz, Oberkochen). Dieses Nephron lieferte für unsere Untersuchungen zwei Angaben: eine spätproximale, bei 12 sec angefärbte Schlinge (A), an der auch die spätere Füllung mit Microfil vorgenommen wurde und die 4220 /u vom Glomerulum entfernt lag, ferner eine nach 18 sec gefärbte, frühdistale Schlinge (B) 1450 /u vor Einmündung des distalen Tubulus in das Sammelrohr. Die Gesamtlänge des Nephrons betrug 17650 /u.

4.2 Ergebnisse im proximalen Tubulus

Die aus den Zeit- und Lokalisationsmessungen erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 angegeben. Dabei werden für die früh- und spätproximalen Punktionsorte im Nephron Zeit t und Längenkoordinate L vom Ursprung des Tubulus gemessen. In der ersten Spalte wird die Entfernung L_{FP} des Punktionsortes vom Glomerulum in /u angegeben, während in der zweiten Spalte die Entfernung den prozentualen Abstand darstellt, der auf die Gesamtlänge des proximalen Tubulus bezogen wird, d.h. L_{FP}/L_{PT}. Der mittlere Wert für die Längenkoordinate eines frühproximalen Punktionsortes ist hierbei mit 1786 /u bestimmt worden. Dies bedeutet, daß die Mikropunktionen im Mittel bei 23,1 % der proximalen Tubuluslänge gefunden werden. und daß die Lissamingrünfront bis zu dieser Stelle 4.5 Sekunden benötigt hat.

Die durch spätproximale Punktionen erhaltenen Werte sind in der Tabelle in analoger Weise dargestellt. Der mittlere Abstand des spätproximalen Punktonsortes betrug 4362 /u. Dies bedeutet, daß man sich im allgemeinen bei einer spätproximalen Mikropunktion bei ca. 56 % der proximalen Tubuluslänge befindet und daß die Farbpassagefront zum Erreichen einer solchen Stelle im Mittel ca. 13 Sekunden benötigt.

4.3 Ergebnisse im distalen Tubulus

Bei den Messungen am distalen Tubulus wurde die Zeit t wie üblich gemessen, während die Lage der Punktionsstelle vom Punkt H aus angegeben wurde. Dies bedeutet, daß die Längen in Spalte 3 und 4 der Tabelle 1 vom Ende des dünnen Teils der Henle'schen Schleife aus bestimmt wurden. Für frühdistale Punktionsstellen ergab sich ein Mittelwert von $L_{FD} = 5199$ /u. Die nachfolgende Spalte, die die Länge prozentual angibt, bezog sich auf die Gesamtlänge des distalen Tubulus. Für frühdistale Punktionsstellen kann man also nach Verstreichen einer Zeit von im Mittel 32 Sekunden, gerechnet von der kapillären Phase, annehmen, daß man sich bei 76,6 % des distalen Tubulus befindet. Entsprechende Ergebnisse sind in der letzten Spalte der Meßresultate für spätdistale Punktionen angegeben. Für diese konnte man einen mittleren Wert von $L_{SD} = 6252$ /u bestimmen, was 92 % der gesamten distalen Tubuluslänge entspricht. Diese Stelle wurde im Mittel in 76 Sekunden von der Lissamingrünfront erreicht.

5.0 Diskussion

5.1 Zur Nomenklatur

Für die Bezeichnungen "proximaler" und "distaler Tubulus" wurde in der vorliegenden Arbeit die in der Mikropunktionsliteratur gebräuchliche Konvention übernommen. Für den proximalen Tubulus ist dies unproblematisch. Er erstreckt sich vom Glomerulus bis zum Ende der proximalen pars recta. Der Übergang in den dünnen absteigenden Teil der Henle'schen Schleife ist im Mazerationspräparat meist eindeutig erkennbar (vergl. Abb. 2). Im Falle des "distalen Tubulus" sind die Verhältnisse wesentlich komplizierter. Gut erkennbar sind an mikrodissezierten Präparaten der Übergang des dünnen aufsteigenden in den dicken aufsteigenden Schleifenschenkel (in der Arbeit als H bezeichnet) und der Zusammenfluß zweier distaler Endsegmente (als S bezeichnet), die dann ein Sammelrohr bilden. Diese Abgrenzung hat den Vorteil der Eindeutigkeit. Sie berücksichtigt jedoch nicht,daß der so bezeichnete distale Tubulus anatomisch, funktionell und entwicklungsgeschichtlich heterogen ist.

Anatomische Unterschiede in diesem Nephronabschnitt hat bereits Peter im Jahre 1907 (13) auf Grund von lichtmikroskopischen Beobachtungen an Mazerationspräparaten von Nieren verschiedener Species beobachtet. Er unterteilte den aufsteigenden dicken Schleifenschenkel in zwei Abschnitte, beschrieb erstmals genau die Anlagerung des distalen Tubulus an das Malphigi'sche Körperchen und beobachtete schließlich, daß sich das an die Anlagerungsstelle anschließende "Schaltstück" durch eine dunklere Farbe und unregelmäßige Kontur von dem "initialen Sammelrohr" unterscheidet, welches bereits vor dem

Zusammenfließen mit anderen Tubuli beginnt. Woodhall und Tisher (19) unterschieden ein "distal convoluted tubule" und ein "cortical collecting duct" mit einem fließenden Übergang beider Segmente ineinander im Bereich oberflächlicher Tubulusabschnitte. Erwähnung verdient vor allem eine kürzlich von Crayen und Thoenes (3) veröffentlichte Arbeit über die Architektur und cytologische Charakterisierung des distalen Tubulus der Rattenniere, in der auf Grund von licht-und elektronenmikroskopischen Untersuchungen die folgende Einteilung getroffen wurde:

Mittelstück: pars recta
macula densa-Segment
pars convoluta

Verbindungsstück

Corticales Sammelrohr: pars convoluta.

In der genannten Arbeit findet sich eine genaue Beschreibung von vier verschiedenen Zelltypen (Mittelstückzelle, Intermediärzelle, helle Sammelrohrzelle, Schaltzelle) und ihrer Häufigkeitsverteilung in den einzelnen Abschnitten. Nach den vorliegenden Befunden stellt das kurze Verbindungsstück den fließenden Übergang des aus dem mesenchymalen Nachnierenblastem entstandenen distalen Nephronabschnittes in das Sammelrohr dar, welches sich von der epithelialen Ureterknospe herleitet.

Befunde, die auf eine funktionelle Heterogenität oberflächlicher "distaler Tubulusschlingen" der Ratten- und Kaninchenniere hinweisen, sind ebenfalls beschrieben worden (Literaturübersicht bei Hierholzer und Wiederholt (9). So scheinen

sich die Mechanismen der transtubulären Potentialbildung (Wright (20)), der Ansprechbarkeit auf ADH (Woodhall and Tisher (19)) und der Ansprechbarkeit auf Corticosteroide (Gross und Kokko (7)), in beiden Abschnitten quantitativ und qualitativ zu unterscheiden. Diese longitudinale Heterogenität ist zu berücksichtigen, wenn man den in der Mikropunktionsliteratur üblichen und aus methodischen Gründen gerechtfertigten Begriff "distaler Tubulus" (Strecke H bis S) wie in der vorliegenden Arbeit benützt.

5.2 Zu den Ergebnissen:

In der vorliegenden Arbeit haben wir eine Methode entwickelt mit Hilfe derer frühproximale, spätproximale, frühdistale und spätdistale Tubulusabschnitte für die Mikropunktion identifiziert werden können. Das Verfahren besteht in der photographischen Registrierung einer einmaligen Farbstoffpassage durch oberflächliche Nierentubuli.

Die gewünschten Segmente können auf den polaroidphotographischen Bildern aufgesucht und anschließend auf der Nierenoberfläche lokalisiert werden. Als Farbstoff wurde das 1963 von Steinhausen in die Nierenphysiologie eingeführte Lissamingrün verwendet (15). Die starke Einschränkung der Anzahl der Lissamingrünpassagen wurde nötig, nachdem Dörge und Nagel (4) festgestellt hatten, daß Lissamingrün den Na -Transport nach Applikation an der epithelialen Seite der Froschbauchhaut (Versuchstier: Rana temporaria) irreversibel hemmt. Obwohl die Autoren in ihrer Arbeit nicht angeben, um welches Lissamingrün es sich dabei gehandelt hat, ist anzunehmen, daß L 6 SF benutzt wurde, denn die Autoren beziehen sich auf

die 1963 von Steinhausen publizierte Arbeit (15). Die Übertragbarkeit dieses Ergebnisses auf das Epithel der Nierentubuli wurde von Dörge und Nagel duch Infusion von 1,2 - 2,2 ml/h einer 3 %igen Lissamingrünlösung nachgewiesen, die in allen Fällen die Natriumexkretion um das zwei- bis dreifache steigen ließ. Die ultrafiltrierbare Lissamingrünkonzentration kann nach Bilanzüberlegungen der Autoren nicht mehr als 100 mg/100 ml betragen haben. Obwohl die Lissamingrünkonzentration für die Passage nach Steinhausen (15) mindestens 100 mg/100 ml betragen muß, um in den Tubulusschlingen sichtbar zu sein, besteht die Möglichkeit, daß Lissamingrün aufgrund der kurzen Verweilzeit keinen wesentlichen Einfluß auf die Natriumresorption ausübt. Nach mehrfachen Passagezeitmessungen jedoch können über einen Anstieg der filtrierbaren LissamingrünPlasmakonzentrationen in den Tubuli, und dort besonders in den distalen Nephronabschnitten, durchaus solche Konzentrationen auftreten, die an der Froschhaut zu einer hochgradigen Verminderung des Natriumtransports geführt haben.

Auch Elmer und Leyssac (5) kamen nach eingehenden Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß die Messungen von Lissamingrün-Passagezeiten während physiologischer Experimente auf eine einzelne Injektion (oder einige wenige innerhalb eines kurzen Zeitintervalles) am Ende des Experiments zu beschränken seien. Sie fanden, daß bei Verwendung von vier chemisch verschiedenen, wohldefinierten Lissamingrün-Farbstoffen kein Unterschied in der proximalen Transitzeit wie auch der Transitzeit durch die Henle'sche Schleife bestand. Dies schließt nicht aus, daß die injizierten Farbstoffe den tubulären Transportprozeß während der Messung verändern. Es wird lediglich angegeben, daß, sei es ein Effekt oder

nicht, er jedenfalls bei allen vier Lissamingrün-Farbstoffen derselbe ist. Der anfängliche und spontane Anstieg des intratubulären Druckes um etwa 2 mm Hg, der einer einmaligen Injektion von Lissamingrün folgt und mit einem Anstieg des arteriellen Blutdruckes zusammenfällt, ist auch bei Injektion der gleichen Menge Kochsalzlösung zu beobachten. Der zweite Anstieg des intratubulären proximalen Druckes um 1 - 2 mm Hg zur Zeit der distalen Anfärbung erscheint jedoch, wenn der Blutdruck bereits wieder stabil ist. Dieser Anstieg erfolgt aber nicht nach Injektion von Kochsalzlösung, so daß dies ein Effekt des Lissamingrüns sein muß. Späte und länger anhaltendere Effekte, die 15 Minuten nach einer einzelnen Lissamingrün-Injektion beobachtet werden konnten, gab es bei Clearence-Experimenten. Es konnte dabei ein Anstieg der osmotischen Ausscheidungsrate und der Urinfluß-rate festgestellt werden.

Wie in der Einleitung ausgeführt, beobachtete auch Heller (8) nach mehrmaliger Injektion von Lissamingrün eine Hemmung des tubulären Transportes von Natrium, Kalium und Wasser.

Parekh et al. (12) führten den natriuretischen Effekt des LG SF auf die Verunreinigungen mit Natriumsulfat zurück, das möglicherweise für die erhöhte Na - Ausscheidung verantwortlich ist. Es wurden die unterschiedlichen Adsorptionszeiten von fünf verschiedenen Lissamingrüntinten an Plasmaalbumin gemessen. Für LG SF lautet das Ergebnis: "Wegen der relativ langen Reaktionshalbzeit (2 Min. bei 37 Grad C) kann der Farbstoff mit Erfolg für Messungen der Passagezeit verwendet werden. Ein kleiner Anteil des LG SF wird bei weiterer Zirkulation im Blut nach und

nach verschwinden, da er eine farblose Verbindung mit Albumin eingeht. Zur selben Zeit ist er auch nicht mehr filtrierbar."

Nach allen bisher vorliegenden Befunden halten wir es für ratsam, die Menge des injizierten Lissamingrüns soweit wie möglich zu reduzieren, d.h. sich auf die Stoßinjektion einer Menge des Farbstoffes zu beschränken, die gerade eben eine ausreichende Beurteilung der Wanderung der Farbfront zuläßt. Die Anzahl der Farbstoffinjektionen pro Versuchstier sollte möglichst niedrig gehalten werden. Dies wird mit dem hier vorgeschlagenen Verfahren erreicht.

Die Beschränkung der Anzahl der Lissamingrün-Injektionen auf eine bis zwei pro Tier (eine Injektion bei Versuchsbeginn und eine weitere bei Versuchsende) ist auch aus einem weiteren Grund angezeigt. Benutzt man zum Aufsuchen von Punktionsorten wiederholte Farbstoffinjektionen, so wird durch die damit verbundenen Flüssigkeitsgaben der steady state von Meßsubstanzen im Plasma gestört, der in den meisten Mikropunktionsexperimenten durch Dauerinfusion z.B. von Inulin, PAH und anderen Verbindungen aufgebaut wird. Häufig wiederholte Injektionen von Lissamingrün-Lösungen können so zu erheblichen Abweichungen der tatsächlichen mittleren Plasmakonzentration einer Meßsubstanz von den durch Blutentnahmen in regelmäßigen Zeitabständen bestimmter und interpolierten Plasmakonzentrationen führen. Auch diese Fehlermöglichkeit wird mit dem in dieser Arbeit vorgeschlagenen Vorgehen umgangen.

Um die Zuverlässigkeit der Lokalisation verschiedener Nephronabschnitte mit Hilfe von Lissamingrün zu prüfen, wandten wir das Mikrodissektionsverfahren an. Im Laufe der Jahre wurden von den einzelnen Autoren unterschiedliche Mazerationsverfahren entwickelt. Baines und De Rouffignac (1) froren die Niere in vivo mit Propan ein, das durch flüssigen Stickstoff gekühlt wurde. Nachdem die Niere sechzehn Stunden in Alkoholferrocyanid gelegen hatte, durchlief sie eine Alkoholreihe und konnte am nächsten Tag disseziert werden. Hier blieben also die Nephren ungefüllt. Auch bei Oliver (11) wurden ungefüllte, in Formalin fixierte Nephren mazeriert. Die Gewebsblöcke wurden so lange in 100 %ige Salzsäure bei Raumtemperatur gelegt, bis sie weich waren. Die Zeit hing dabei von dem Anteil an fibrösen Fasern ab und betrug zwischen zwölf und vierundzwanzig Stunden. Diese Methoden sind für morphologische Studien an einer größeren Population von Nephren gut geeignet. Kommt es jedoch darauf an, bestimmte Nephren zu vermessen, so empfiehlt sich die Füllung mit einem im Augenblick der Füllung flüssigen, später auspolimerisierenden Kunststoff. So wurden von Wahl und Schnermann (17) mit Latex gefüllte Nephren in 50 %iger Salzsäure für hundert Minuten bei 40 Grad C mazeriert. Danach wurde das Gewebe in 1 n NaOH gegeben. Das von uns verwendete Microfil hat gegenüber anderen Gummikunststoffen einige Vorteile, die hier kurz aufgezählt werden sollen:

1. Die Arbeitszeit beträgt 8 Minuten und beginnt mit Zugabe des "Curing Agent". Während dieser Zeit ist Mikrofil in dem oben angegebenen Mischungsverhältnis durch Glaskapillaren injizierbar, deren Spitzen einen äußeren Durchmesser bis zu 12 µ haben.

2. Mikrofil formt nach der Auspolimerisation einen elastischen Ausguß, der bei der Dissektion weniger bruchempfindlich ist. Alle Schlingen können bei der Dissektion in eine Ebene (Objektfläche) gebracht werden, so daß die Ausmessung exakt ausgeführt werden kann.

3. Bei der Auspolimerisation wird keine Wärme frei, die das umgebende Gewebe vor der endgültigen Aushärtung der Füllung zerstören könnte.

Zu den proximalen Ergebnissen sei bemerkt, daß Gottschalk und Mylle (6) bei Mikropunktionsversuchen mit anschließender Mazeration und Lokalisation der Punktionsstelle fanden, daß der Anteil des frühproximalen Tubulus, der wegen seiner Lage unter der Oberfläche der Mikropunktion nicht zugänglich ist, ungefähr 10 % der Gesamtlänge des proximalen Tubulus ausmacht. Aus den obigen Ergebnissen erkennt man, daß dieser Wert wohl zu niedrig sein muß, da in den frühproximalen Messungen hier im Mittel 22 % berechnet wurden. Die spätproximale Punktionsstelle wurde von Steinhausen auf 60 % - 70 % der Gesamtlänge des proximalen Tubulus geschätzt. Baines und DeRouffiniac (1) zeigten allerdings erstmalig 1969, daß 50 - 60 % der Gesamtlänge des proximalen Tubulus als pars convoluta in der Oberfläche liegen, und daß die übrigen 40 - 50 % ziemlich gerade in die Tiefe der Rinde führen. Wie aus unseren obigen Meßergebnissen ersehen werden kann (Tab. 1), ergibt sich für die spätproximale Punktionsstelle ein Mittelwert von 56 %, der mit den Ergebnissen von Baines und DeRouffiniac sehr gut übereinstimmt. Wie in Tabelle 1 dargestellt ist, haben unsere Messungen

ergeben, daß es mit der Lissamingrün-Methode gelingt, frühproximale und spätproximale Nephronsegmente voneinander abzugrenzen. Punktiert man oberflächliche Schlingen, die sich im Mittel 4,5 Sekunden nach der Gefäßphase des Lissamingrüns anfärben, so beträgt die mittlere Entfernung vom Glomerulus 1783 $\pm$ /u, was 23 % der Gesamtlänge des proximalen Tubulus entspricht. Segmente, die sich nach 12,9 Sekunden anfärben, sind dagegen im Mittel 4362 $\pm$/u vom Glomerulus entfernt. Dies entspricht 56 % des proximalen Tubulus.

Auch im distalen Tubulus lassen sich mit dem angegebenen Verfahren frühdistale und spätdistale Punktionsorte lokalisieren. Die entsprechenden Werte sind in der Tabelle 1 enthalten. Für den Vergleich der im distalen Tubulus erhaltenen Meßwerte stehen in der Literatur nur wenige Angaben zur Verfügung. Sperber (14) gibt die Längen der einzelnen Nephronabschnitte in Prozent der Gesamtlänge des Nephrons an. Dies läßt den Vergleich der Quotienten L_{DT}/L_{PT}, d.h. Länge des distalen Tubulus zur Länge des proximalen Tubulus zu. Die Quotienten sind annähernd gleich. Wright et al. (21) beziehen sich auf die Länge der pars convoluta in der Lokalisation ihrer distalen Punktionsorte. Da wir mit unseren Prozentangaben von der Gesamtlänge des distalen Tubulus ausgehen, ist eine Gegenüberstellung der Ergebnisse nicht möglich. Lediglich der Abstand der frühdistalen Punktionsstelle von der spätdistalen könnte verglichen werden. Dazu muß man von der von Wahl und Schnermann (18) für die pars convoluta des distalen Tubulus einer 240 g schweren Ratte angegebenen Länge von 2000 /u ausgehen. Für die von Wright et al. (21) angegebenen früh- und spätdistalen Punktionsorte, die

bei ca. 30 % und 80 % der Länge der pars convoluta des distalen Tubulus liegen, ergibt sich bezogen auf die oben angegebene Gesamtlänge eine Differenz von 1000 µ, die bei uns aus Tabelle 1 ebenfalls ersichtlich ist.

Da entlang des ganzen Nephrons Tubulusflüssigkeit resorbiert wird, muß die mittlere Strömungsgeschwindigkeit in einem gegebenen Tubulusabschnitt mit konstantem Lumen abnehmen. In der Punktionsort-Zeitkurve gibt die Steigung der Kurve die mittlere Strömungsgeschwindigkeit ($\bar{\omega}$) an, d.h. es gilt:

$$\frac{dl}{dt} = \bar{\omega}$$

In der Tab. 2 sind die Quotienten Länge bis zum Punktionsort dividiert durch Lissaminpassagezeit aufgetragen. Es ist deutlich, daß dieser Wert entlang der proximalen und des distalen Tubulus abnimmt. Es wäre nun naheliegend aus den früh- und spätproximalen bzw. den früh- und spätdistalen Passagezeiten eine Funktion der Geschwindigkeitsabnahme zu berechnen, was gleichbedeutend wäre mit der Bestimmung der Resorptionsrate entlang des Nephrons. Dieses Vorgehen halten wir nicht für gerechtfertigt und zwar aus zwei Gründen. Erstens ist das Tubuluslumen der verschiedenen Segmente photographisch nicht genügend exakt bestimmbar. Zweitens ist das Auflösungsvermögen des Lissamingrünverfahrens für eine quantitative Erfassung der kontinuierlichen Abnahme der Strömungsgeschwindigkeit vor allem in weiter distal gelegenen Nephronabschnitten nicht groß genug. Das heißt, man kann durch Lissamingrüninjektion und Serienphotographie gezielt frühe und späte Abschnitte oberflächlicher Tubuli identifizieren, punktieren und die Meßergebnisse beider Gruppen miteinander vergleichen. Die kontinuierliche Abhängigkeit eines Transportparameters von der Länge eines untersuchten Nephronsegmentes dagegen läßt sich mit Lissamingrün nicht exakt erfassen.

7.0 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein photografisches Verfahren angewandt, um in vivo geziehlt proximale und distale Tubuli der Rattenniere zu lokalisieren. Durch eine einmalige Injektion des Farbstoffes Lissamingrün wurde das Ultrafiltrat angefärbt und die tubuläre Passage der gefärbten Tubulusurinsäure durch das Nephron photografisch festgehalten. Wir benutzten dazu Polaroid-Filmmaterial. Auf diese Weise konnten die zu verschiedenen Zeiten angefärbten Tubulussegmente identifiziert, nach den photografischen Aufnahmen lokalisiert und danach punktiert werden. Durch anschließende Injektion des polimerisierenden Stoffes Mikrofill und durch Mikrodissektion der so erhaltenen Tubulusausgüsse wurden die Punktionsorte entlang des Nephrons ausgemessen.

Mit dem hier vorgeschlagenen Verfahren gelingt es, frühproximale, spätproximale, frühdistale und spätdistale Punktionsorte für hintereinander erfolgende Punktionen an der Nierenoberfläche zu identifizieren. Mögliche Schädigungen tubulärer Transportprozesse durch wiederholte Farbstoffinjektionen, wie sie in der Literatur beschrieben wurden, werden mit dem hier angegebenen Verfahren umgangen.

Tabelle 1:

Vier verschiedene Punktionsorte im Nephron oberflächlicher Rattentubuli. (Abkürzungen siehe unter 1.0)

A) proximal:

frühproximal			spätproximal		
Länge µ	(L_{FP}) %	Zeit sec	Länge µ	(L_{SP}) %	Zeit sec
2030	26,4	5	3820	49,4	10
1540	19,9	4	4950	64,1	13
1700	22,0	4	5350	69,2	14
1590	20,6	5	3950	51,1	17
2610	33,8	7	3490	45,3	17
1770	22,9	4	4890	63,2	14
1880	24,3	5	5110	66,1	8
2200	28,5	4	4740	61,2	9
520	6,7	3	4220	54,8	12
2020	26,1	4	3100	40,1	15
$\bar{x}$ = 1786,0	23,1	4,5	4362,0	56,5	12,9
SD = 545,97	7,08	1,07	755,7	9,74	3,14
SE = 172,77	2,24	0,33	239,14	3,08	0,99

Fortsetzung Tabelle 1:

B) distal:

frühdistal			spätdistal		
Länge µ	(L_{FP}) %	Zeit sec	Länge µ	(L_{SP}) %	Zeit sec
5392	79,5	45	5982	88,2	60
5192	76,5	25	5782	85,2	127
5202	76,7	20	6582	97,0	50
5112	75,3	28	6052	89,2	76
5212	76,8	49	6182	91,1	84
5082	74,9	48	6502	95,8	55
5332	78,6	18	6682	98,1	80
5182	76,4	18			
4950	72,9	35			
5132	75,6	40			
5400	79,5	26			
$\bar{x}$ = 5198,9	76,6	32,0	6252,0	92,1	76,0
SD = 135,5	2,0	11,93	340,34	4,93	25,99
SE = 40,93	0,6	3,6	128,91	1,86	9,84

Tabelle 2:

Aus Längen- und Zeitwerten berechnete mittlere Strömungsgeschwindigkeiten für vier verschiedene Punktionsorte oberflächlicher Rattentubuli

A) proximal:

frühproximal			spätproximal		
Länge µ	Zeit sec	Länge/Zeit µ/sec	Länge µ	Zeit sec	Länge/Zeit µ/sec
1540	4	385	3820	10	382
1700	4	425	4950	13	381
1770	4	443	5110	8	639
2200	4	505	4740	9	527
520	3	173	4220	12	352
2020	4	505	5350	14	382
2030	5	406	3950	17	233
1590	5	318	3490	17	205
2610	7	373	4890	14	349
1880	5	376	3100	15	207
	n = 10			n = 10	
	$\bar{x}$ = 390,90			$\bar{x}$ = 365,70	
	SD = ±96,33			SD = ±137,66	
	SE = ±30,46			SE = ± 43,53	

Fortsetzung Tabelle 2:

B) distal:

frühdistal

Länge µ	Zeit sec	Länge/Zeit µ/sec	Länge µ	Zeit sec	Länge/Zeit µ/sec
14 392	45	319,82	14 982	60	249,70
14 192	25	568,68	14 782	127	116,39
14 202	20	710,10	15 582	50	311,64
14 112	28	504,00	15 052	76	198,05
14 212	49	290,04	15 182	84	180,74
14 082	48	293,38	15 502	55	281,85
14 332	18	796,22	15 682	80	196,03
14 182	18	787,89			
13 950	35	398,57			
14 132	40	353,30			
14 400	26	553,85			

n =	11
$\bar{x}$ =	506,8042
SD_x =	$\pm$ 193,08
$SE_{\bar{x}}$ =	$\pm$ 58,22

n =	7
$\bar{x}$ =	219,2006
SD_y =	$\pm$ 66,37
$SE_{\bar{y}}$ =	$\pm$ 25,09

7.0 Literaturverzeichnis

1) Baines, A.D., C.DeRouffignac: Functional heterogeneity of nephrons. II. Filtration rates, intraluminal flow velocities and fractional water reabsorption. Pflügers Archiv ges. Physiol. 308: 260-276 (1969)

2) Bott, P.A.: Renal excretion of creatinine in necturus. A reinvestigation by direct analysis of glomerular and tubule fluid for creatinine and inulin. Am.J.Physiol. 168:107 (1952)

3) Crayen, M., W.Thoenes: Architektur und cytologische Charakterisierung des distalen Tubulus der Rattenniere. Fortschr. Zool. 23: 270-288 (1975)

4) Dörge, A., W. Nagel: Die Wirkung von Lissamingrün auf den Natriumtransport an der isolierten Bauchhaut von Rana temporaria. Pflügers Archiv ges. Physiol. 313: 11-18 (1969)

5) Elmer, M., P.P. Leyssac: A study of the effects of some chemically well defined lissamine green on tubular and overall renal function in the rat (which an evaluation of the validity of lissamine green transit time measurements in studies of tubular function). Acta physiol. scand. 87: 296-306 (1973)

6) Gottschalk, C.W., M.Mylle: Micropuncture study of pressures in proximal tubules and peritubular capillaries of the rat kidney and their relation to ureteral and renal venous pressures. Am.J.Physiol. 185: 430-439 (1956).

7) Gross, J.B., I.Masashi, J.P.Kokko: A functional comparison of the cortical collecting tubule and the distal convoluted tubule. J.Clin.Invest. 55:1284-1294 (1975)

8) Heller,J.: The influence of lissamine green on tubular reabsorption of electrolytes and water in rats. Pflügers Arch. ges.Physiol. 323: 27-33 (1971)

9) Hierholzer,K., M.Wiederholt: Some aspects of distal tubular solute and water transport. Kidney Int. 9: 198-213 (1976)

10) Hierholzer,K., M.Wiederholt, H.Stolte, B.Braatz, S.Kappla: Hemmung der Natriumresorption im proximalen und distalen Konvolut adrenalektomierter Ratten. Pflügers Arch.ges.Physiol 291: 43-62 (1966)

11) Oliver,J., M.MacDowell, A.Tracy: The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury. Renal ischemia, nephrotoxic damage and the ischemuic episode. J.clin.Invest. 30: 1305 (1951)

12) Parekh,N., G.Popa, R.u.W.Galaske, H.Steinhausen: Renal test dyes I. Phlügers Arch. 343: 1-9 (1973)

13) Peter,K.: Über die Nierenkanälchen des Menschen und einiger Säugetiere. Anat.Anz. 30 (suppl): 114-124 (1907)

14) Sperber,J.: Studies on the mammalian kidney. Zool.Bidrag, Uppsala XXII, 249-432 (1944)

15) Steinhausen,M.: Eine Methode zur Differnzierung proximaler und distaler Tubuli der Nierenrinde von Ratten in vivo und ihre Anwendung zur Bestimmung tubulärer Strömungsgeschwindigkeiten. Pflügers Archiv ges.Physiol. 277: 23-35 (1963)

16) Thoenes, W., K.H. Langer: Relationship between cell structures of renal tubules and transport mechanisms, in: Renal transport and diuretics. New York, Springer-Verlag 1969.

17) Wahl, M., J. Schnerman: Microdissection study of the length of different tubular segments of rat superficial nephrons. Z. Anat. Entwicklungsgeschichte 129: 128-134 (1969)

18) Wiederholt, M.: A new method of studying the function of the descending part of the proximalt tubule in vivo. Yale J. Biol. Med. 45: 439-445 (1972)

19) Woodhall, P.B., C.C. Tisher: Response of the distal tubule and cortical collecting tubule to vasopressin in the rat. J. Clin. Invest. 52: 3095-3108 (1973)

20) Wright, F.S.: Increasing magnitude of electrical potential along the renal distal tubule. Am. J. Physiol. 220: 624-638 (1971)

21) Wright, F.S., W. Strieder, N.B. Fowler, G. Giebisch: Potassium secretion by distal tubule after potassium adaption. Am. J. Physiol. 221: No. 2 August 1971

Lebenslauf

Am 8.12.1949 wurde ich als Tochter des Predigers Gerhard Schneider und seiner Ehefrau Helga, geb. Schmetzstorff, in Berlin geboren.

Von 1956 bis 1962 besuchte ich die 3. Grundschule Berlin-Tempelhof und von 1962 bis 1969 das Askanische Gymnasium, ebenfalls in Berlin-Tempelhof gelegen. Dort machte ich im Frühjahr 1969 das Abitur und begann das Humanmedizinstudium an der Freien Universität Berlin, das ich im Wintersemester 1974/75 mit dem Staatsexamen beendete.

Bereits im Sommer 1972 begann ich mit der Einarbeitung in das Thema meiner Dissertationsarbeit: "Eine photographische Methode zur Lokalisation des Punktionsortes bei Oberflächentubuli der Rattenniere", das mir von Herrn Prof.Dr.med. Klaus Hierholzer, dem Leiter des Instituts für Klinische Physiologie an der Freien Universität Berlin, gestellt worden war. Die Durchführung der Experimente erfolgte 1973.

Seit dem 1.4.1975 arbeite ich als Medizinalassistentin im Kreiskrankenhaus Achern/Baden. Es ist mein Wunsch, nach Beendigung dieser Pflichtassistenz eine Facharztausbildung in der Inneren Medizin zu erhalten.

Für die Stellung des Themas sowie für die Einführung in die Technik der Mikropunktion danke ich Herrn Prof.Dr.med. Hierholzer. Herrn Dr. med. Roland Müller-Suur und Fräulein Ingrid Lichtenstein sage ich Dank für die Hilfe bei der Durchführung der Experimente.

Zusammenfließen mit anderen Tubuli beginnt. Woodhall und Tisher (19) unterschieden ein "distal convoluted tubule" und ein "cortical collecting duct" mit einem fließenden Übergang beider Segmente ineinander im Bereich oberflächlicher Tubulusabschnitte. Erwähnung verdient vor allem eine kürzlich von Crayen und Thoenes (3) veröffentlichte Arbeit über die Architektur und cytologische Charakterisierung des distalen Tubulus der Rattenniere, in der auf Grund von licht-und elektronenmikroskopischen Untersuchungen die folgende Einteilung getroffen wurde:

Mittelstück: pars recta
macula densa-Segment
pars convoluta

Verbindungsstück

Corticales Sammelrohr: pars convoluta.

In der genannten Arbeit findet sich eine genaue Beschreibung von vier verschiedenen Zelltypen (Mittelstückzelle, Intermediärzelle, helle Sammelrohrzelle, Schaltzelle) und ihrer Häufigkeitsverteilung in den einzelnen Abschnitten. Nach den vorliegenden Befunden stellt das kurze Verbindungsstück den fließenden Übergang des aus dem mesenchymalen Nachnierenblastem entstandenen distalen Nephronabschnittes in das Sammelrohr dar, welches sich von der epithelialen Ureterknospe herleitet.

Befunde, die auf eine funktionelle Heterogenität oberflächlicher "distaler Tubulusschlingen" der Ratten- und Kaninchenniere hinweisen, sind ebenfalls beschrieben worden (Literaturübersicht bei Hierholzer und Wiederholt (9). So scheinen

sich die Mechanismen der transtubulären Potentialbildung (Wright (20)), der Ansprechbarkeit auf ADH (Woodhall and Tisher (19)) und der Ansprechbarkeit auf Corticosteroide (Gross und Kokko (7)), in beiden Abschnitten quantitativ und qualitativ zu unterscheiden. Diese longitudinale Heterogenität ist zu berücksichtigen, wenn man den in der Mikropunktionsliteratur üblichen und aus methodischen Gründen gerechtfertigten Begriff "distaler Tubulus" (Strecke H bis S) wie in der vorliegenden Arbeit benützt.

5.2 Zu den Ergebnissen:

In der vorliegenden Arbeit haben wir eine Methode entwickelt mit Hilfe derer frühproximale, spätproximale, frühdistale und spätdistale Tubulusabschnitte für die Mikropunktion identifiziert werden können. Das Verfahren besteht in der photographischen Registrierung einer einmaligen Farbstoffpassage durch oberflächliche Nierentubuli.

Die gewünschten Segmente können auf den polaroidphotographischen Bildern aufgesucht und anschließend auf der Nierenoberfläche lokalisiert werden. Als Farbstoff wurde das 1963 von Steinhausen in die Nierenphysiologie eingeführte Lissamingrün verwendet (15). Die starke Einschränkung der Anzahl der Lissamingrünpassagen wurde nötig, nachdem Dörge und Nagel (4) festgestellt hatten, daß Lissamingrün den Na -Transport nach Applikation an der epithelialen Seite der Froschbauchhaut (Versuchstier: Rana temporaria) irreversibel hemmt. Obwohl die Autoren in ihrer Arbeit nicht angeben, um welches Lissamingrün es sich dabei gehandelt hat, ist anzunehmen, daß L 6 SF benutzt wurde, denn die Autoren beziehen sich auf

F. Höpfner - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198